

EFFEKT VON MODULATOREN DER
PROSTAGLANDIN E₂-BIOSYNTHESE
AUF DIE ALLERGENTACHYPHYLAXIE
BEIM ALLERGISCHEN ASTHMA
BRONCHIALE DES MEERSCHWEINCHENS
IN VIVO

Walter Müller

*Diss
München
1985*

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. H. Spieß

EFFEKT VON MODULATOREN DER PROSTAGLANDIN E_2 -BIOSYNTHESE
AUF DIE ALLERGENTACHYPHYLAXIE
BEIM ALLERGISCHEN ASTHMA BRONCHIALE DES MEERSCHWEINCHENS
IN VIVO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Walter Müller
aus Ulm
1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Spieß

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29.01.1985

Einleitung

Die vorliegende Arbeit ist eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchung der Dankbarkeit bei Kindern und Jugendlichen. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

1.

2. Die Ergebnisse der Untersuchung

3.

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

4. Die Ergebnisse der Untersuchung

5. Die Ergebnisse der Untersuchung

6. Die Ergebnisse der Untersuchung

7. Die Ergebnisse der Untersuchung

8. Die Ergebnisse der Untersuchung

9. Die Ergebnisse der Untersuchung

10. Die Ergebnisse der Untersuchung

11. Die Ergebnisse der Untersuchung

12. Die Ergebnisse der Untersuchung

13. Die Ergebnisse der Untersuchung

14. Die Ergebnisse der Untersuchung

15. Die Ergebnisse der Untersuchung

16. Die Ergebnisse der Untersuchung

17. Die Ergebnisse der Untersuchung

18. Die Ergebnisse der Untersuchung

19. Die Ergebnisse der Untersuchung

Gliederung

Effekt von Modulatoren der Prostaglandin E_2 -Biosynthese auf die Allergentachyphylaxie beim allergischen Asthma bronchiale des Meerschweinchens in vivo

1. Einleitung
 - 1.1. Biochemie des allergischen Asthma bronchiale
 - 1.2. Metabolismus der Arachidonsäure
 - 1.2.1. Lipoxygenase-Weg
 - 1.2.2. Zyklooxygenase-Weg
 - 1.2.2.1. Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$
 - 1.2.2.2. Modulatoren der Synthese der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$
 - 1.3. Allergentachyphylaxie
 - 1.4. Arbeitshypothese
2. Material und Methodik
 - 2.1. Versuchstiere
 - 2.2. Lungenfunktionsmethode
 - 2.3. Inhalationsmethode
 - 2.4. Verwendete Substanzen
 - 2.4.1. Parachloromercuribenzoat
 - 2.4.2. Kupfersulfat
 - 2.4.3. Kupfer-Dithiotreitol-Komplex
 - 2.4.4. Dithiotreitol
 - 2.4.5. Dimercaptopropanol

2.4.6.	Aurothioglucose	1.2.1.6
2.4.7.	Reduziertes Glutathion	1.2.1.7
2.4.8.	Zink-Dithiotreitol-Komplex	1.2.1.8
2.4.9.	Bezugsquellen	1.2.1.9
2.5.	Experimentelles Design	1.2.2
2.6.	Statistik	1.2.3
3.	Ergebnisse	1.3
3.1.	Parachloromercuribenzoat	1.3.1
3.2.	Kupfersulfat	1.3.2
3.3.	Kupfer-Dithiotreitol-Komplex	1.3.3
3.4.	Dithiotreitol	1.3.4
3.5.	Dimercaptopropanol	1.3.5
3.6.	Aurothioglucose	1.3.6
3.7.	Reduziertes Glutathion	1.3.7
3.8.	Zink-Dithiotreitol-Komplex	1.3.8
4.	Diskussion	1.4
5.	Zusammenfassung	1.5

1. Einleitung

1.1. Biochemie des allergischen Asthma bronchiale

Die Biochemie des allergischen Asthma bronchiale wird von primären und sekundären Mediatoren bestimmt. Zellulärer Träger der primären Mediatoren (z.B. Histamin) ist die Mastzelle. Sekundäre Mediatoren (z.B. Prostaglandine) werden u.a. von der Bronchialmuskulatur und in den Fibroblasten gebildet. Sie sind dadurch charakterisiert, daß sie mittelbar durch Beeinflussung der primären Mediatoren in den Verlauf der Entzündungsreaktion und der klassischen anaphylaktischen Reaktion (Typ I-Reaktion) eingreifen.

Bei der klassischen anaphylaktischen Reaktion bewirkt ein Antigenkontakt folgende biochemische Vorgänge in der Mastzelle (74):

Auf der Mastzelloberfläche werden 2 IgE-Moleküle durch ein Antigen verbunden ("Brückenschlag"). Dies führt zur Methylierung von Phospholipiden in der Mastzellmembran und zum Einstrom von Kalziumionen. Daraufhin wird die Phospholipase A aktiviert, die die Abspaltung der Arachidonsäure aus Phospholipiden katalysiert. Die Arachidonsäure wiederum wird zu aktiven Metaboliten abgebaut, die als sekundäre Mediatoren (81) die Freisetzung von Histamin aus der Mastzelle und die Biosynthese von Leukotrienen (SRS-A) teils fördern, teils mindern. Histamin und SRS-A bewirken ihrerseits wieder die Synthese von Prostaglandinen und Thromboxanen. Neben Histamin und den Metaboliten der Arachidonsäure werden dem Bradykinin, dem Kallikrein, dem Serotonin, dem Plättchenaktivierenden Faktor und dem Eosinophil-Chemotactic-Factor-Of-Anaphylaxis wichtige Mediatorrollen bei der anaphylaktischen Reaktion zugeschrieben (74). Die Mediatorfreisetzung unterliegt der Regulation durch das System der zyklischen Nukleotide c-AMP und c-GMP, die als sekundäre Messenger fungieren (38, 73).

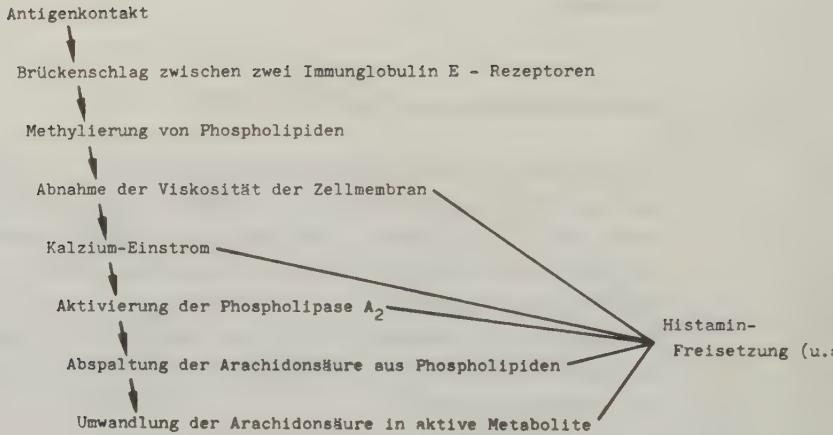


Abbildung 1:
Schema: Kaskade der biochemischen Vorgänge in der Zellmembran der Mastzelle (36)

1.2. Metabolismus der Arachidonsäure

Die Prostaglandine, u.a. Prostaglandin E₂ und F_{2α} und andere sekundäre Mediatoren der anaphylaktischen Reaktion sind Derivate der Arachidonsäure. Der Metabolismus der Arachidonsäure geschieht auf zwei Wegen (27).

1.2.1. Lipoxygenase-Weg

Die Lipoxygenase katalysiert die Synthese von Hydro-Peroxy-Eicosänoischen Säuren (HPETE), aus denen jeweils die Hydroxy-Form (HETE) synthetisiert wird. Auf einem weiteren Syntheseweg entstehen die Leukotriene (SRS-A). Aus dem Epoxid Leukotrien A₄ (das unter Wasserabspaltung aus 5 HPETE entsteht) geht einerseits Leukotrien B₄



Abbildung 2: Metabolismus der Arachidonsäure

hervor; andererseits verbindet sich Leukotrien A_4 mit Reduziertem Glutathion (GSH) zu Leukotrien C_4 , aus dem die Leukotriene D_4 und E_4 gebildet werden.

1.2.2. Zylooxygenase-Weg

Die Synthese der Prostaglandine, die uns im weiteren interessieren werden, wird von der Zylooxygenase katalysiert. Der Syntheseweg führt über das Prostaglandin G_2 zu Prostaglandin H_2 , das in Prostaglyklin (Prostaglandin I_2), die Thromboxane A_2 und B_2 und die Prostaglandine D_2 , E_2 und $F_{2\alpha}$ übergeführt werden kann. Prostaglandin E_2 und $F_{2\alpha}$ werden jeweils auch ineinander umgebaut (Pg-Ketoreduktase) (37). Die Prostaglandin E_2 - und D_2 -Synthese erfolgt dabei auf enzymatischem Wege aus Prostaglandin H_2 durch die Prostaglandin E_2 - bzw. D_2 -Isomerase, der Abbau zu Prostaglandin $F_{2\alpha}$ dagegen nicht-enzymatisch (47, 72).

1.2.2.1. Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$

Die Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$, die sich durch eine Keto- bzw. Hydroxylgruppe an C9 unterscheiden, spielen eine Rolle bei der Regulation des physiologischen und pathologischen Bronchialtonus. Über jeweils spezifische Rezeptoren wirken sie antagonistisch auf die Mastzelle (1, 7, 43, 53). Prostaglandin E_2 fördert die c-AMP-Bildung, vermindert die Histaminausschüttung und bewirkt eine Bronchodilatation (11, 29, 39, 50, 51, 58, 60, 76, 77, 79, 82, 85, 95, 97, 99); Prostaglandin $F_{2\alpha}$ fördert die c-GMP-Bildung, erhöht die Histaminausschüttung und bewirkt eine Bronchokonstriktion (40, 60, 80, 88).

1.2.2.2. Modulatoren der Synthese der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$

Die enzymatische Synthese von Prostaglandin E_2 und die nichtenzymatische von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ können durch andere Substanzen moduliert werden. Solche Substanzen sind u.a.:

Parachloromercuribenzoat (PCMB)
Kupfersulfat ($CuSO_4$)
Kupfer-Dithiotreitol-Komplex ($CuDTT$)
Dithiotreitol (DTT)
Dimercaptopropanol (DMP)
Aurothioglucose (Au)
Reduziertes Glutathion (GSH)
Zink-Dithiotreitol-Komplex ($ZnDTT$)

Zugunsten von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ wird das Verhältnis verändert durch PCMB (34), $CuSO_4$ und $CuDTT$ (15, 44, 48, 82, 86) und die Thiole DMP und DTT (63, 71), wobei von DTT auch eine Prostaglandin E_2 begünstigende Wirkung beschrieben wurde (62, 63). Zur Wirkungsweise siehe Diskussion Seite 28 ff.

Zugunsten von Prostaglandin E_2 wird das Verhältnis verändert durch Au (82) und $ZnDTT$ (15, 82) (s.S. 31 ff); GSH wirkt als Coenzym der Prostaglandin E_2 - und D_2 -Isomerase und ist integraler Bestandteil der Leukotriene (61, 62).

1.3. Allergentachyphylaxie

Unter Tachyphylaxie verstehen die Pharmakologen die zunehmende Wirkungsminderung eines Pharmakons bei mehrfacher Applikation in kurzen Zeitabständen (69).

Unter Allergentachyphylaxie verstehen wir die zunehmende Verringerung der Reaktionsbereitschaft bei wiederholter Allergengabe. Das heißt beim Asthma bronchiale: zunehmend schwächere asthmatische Reaktionen auf wiederholte Allergenprovokation.

Werden sensibilisierte Meerschweinchen wiederholt mit Ovalbumin provoziert, so nimmt die Intensität der asthmatischen Reaktionen kontinuierlich ab. Dieses Phänomen ist nicht das Resultat einer Erschöpfung, sondern beruht auf einem aktiven Schutzmechanismus, der durch Acetylsalicylsäure und Indomethacin behindert werden kann. Mit diesen Zykoxygenasehemmern vorbehandelte Tiere zeigen eine stark abgeschwächte Allergentachyphylaxie. Bei zusätzlicher gleichzeitiger Gabe von Prostaglandin E_2 in geringen (selbst nicht bronchodilatatorisch wirksamen) Dosen tritt die Allergentachyphylaxie wieder unvermindert ein (23).

Neben der Allergentachyphylaxie bei Meerschweinchen sind auch eine Histamintachyphylaxie bei isolierten Streifen von Hundetrachealmuskulatur (5, 6) und eine Leukotrien B_4 -Tachyphylaxie an isoliertem Meerschweinchenlungengewebe (20) bekannt.

1.4. Arbeitshypothese

Die Ergebnisse der Untersuchungen von Andersen (5, 6) und Dorsch (23, 24) machen es wahrscheinlich, daß sekundäre Mediatoren der anaphylaktischen Reaktion (Prostaglandin E_2) eine modulierende Wirkung auf die Allergentachyphylaxie haben. Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die Hypothese, die Allergentachyphylaxie in vivo entstehe durch endogene Prostaglandin E_2 -Biosynthese (23). Es sollte untersucht werden, ob die Allergentachyphylaxie durch Modulatoren der Prostaglandin E_2 -Biosynthese veränderbar ist.

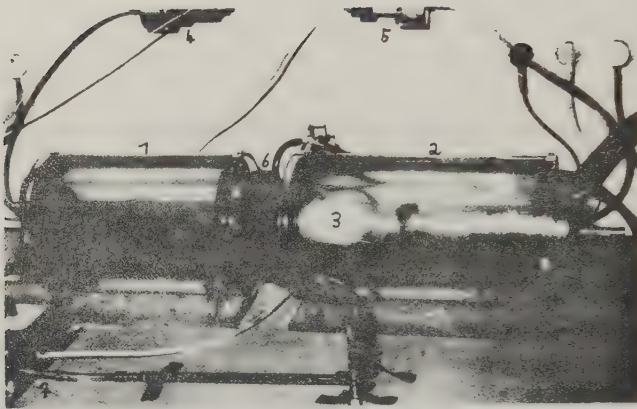
2. Material und Methodik

2.1. Versuchstiere

Die Versuchstiere sind männliche 200 bis 250 g schwere Pirbright-Meerschweinchen aus der Zucht von Ivanovas (Kißlegg/Allgäu). Sie werden gegen Ovalbumin (Sigma, Grad 2) sensibilisiert durch Injektion von jeweils 100 mg Ovalbumin intraperitoneal und intramuskulär. Die Allergeninhalationen finden in der vierten und fünften Woche nach der Sensibilisierung statt.

2.2. Lungenfunktionsmethode

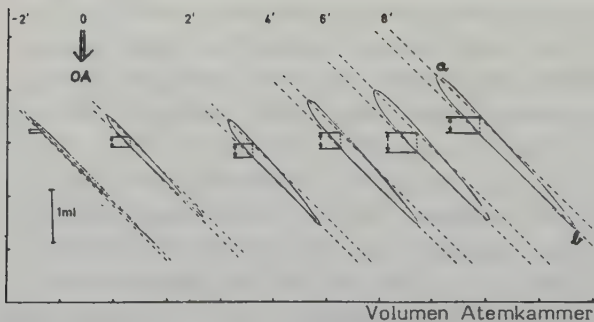
Die verwendete Lungenfunktionsmethode wurde bereits ausführlich beschrieben (23, 24, 93). Sie benutzt einen zweikammrigen Plethysmographen: Die beiden Kammern des Plethysmographen sind durch eine wassergefüllte Manschette getrennt, die sich um den Kopf des Versuchstieres schließt. Die Messungen werden unter konstanten, in beiden Kammern identischen Gasbedingungen durchgeführt, d.h. bei identischen Volumina, 100 % relativer Luftfeuchtigkeit und gleicher Temperatur. Die atemabhängigen Volumenänderungen in beiden Kammern (Atem- und Körperkammer) werden von Druckumwandlern (Swensor, Schweden, type SP 2060, 0-6 Torr) gemessen und gleichzeitig von einem Linear-Schreiber (Hellige, BRD, "Recomed") und einem XY-Schreiber (Hewlett Packard, USA, XY recorder 7045 A) aufgezeichnet. Von dem daraus resultierenden zweidimensionalen Diagramm (Atemschleife) kann "compressed air" abgelesen werden. Dieser Parameter spiegelt das Gasvolumen wider, um welches Luft in der Lunge komprimiert werden muß, um den jeweiligen Atemwegswiderstand zu überwinden. Alle Lungenfunktionsmessungen werden an intakten spontan atmenden Tieren durchgeführt, die weder mit zentral dämpfenden noch mit anästhetisierenden Medikamenten behandelt werden.



- 1 Atemkammern mit Wassermantel
- 2 Körperkammer mit Wassermantel
- 3 Versuchstier
- 4 Druckabnehmer für x-Achse
- 5 Druckabnehmer für y-Achse
- 6 Wassermanschette
- 7 Eichpumpe

Abbildung 3 Zweikammeriger Ganzkörperplethysmograph (94).
In der Körperkammer befindet sich ein Versuchstier.

Volumen
Körperkammer



- ← Zeit vor oder nach der Allergenprovokation (1 % Ovalbumin, 30 sec)
- ↕ compressed air (ml)
- 45°-Geraden
- a inspiratorischer Wendepunkt
- b expiratorischer Wendepunkt

Abbildung 4 Messung von compressed air während einer Allergenprovokation eines sensibilisierten Meerschweinchens (24).

In Abwandlung der früheren Dokumentationsweise wird nach der üblichen Eichung der Y-Achse derart nachgeeicht, daß bei gesunden unbehandelten Tieren "compressed air" gleich Null ist; gemessen wird also nur die pathologische Atemwegswiderstandserhöhung.

Die Auswertung der Atemschleife wird gegenüber früher ebenfalls verändert: Als Parameter für "compressed air" wird ausschließlich der vertikale Abstand der -45° -Geraden durch den endexpiratorischen und den endinspiratorischen Wendepunkt der Atemschleife herangezogen. Ein Abweichen des expiratorischen Teiles der Atemschleife unter die -45° -Gerade durch den endexpiratorischen Wendepunkt der Atemschleife wird außer Acht gelassen. Dynamische Vorgänge wie reversible Retention z.B. durch turbulente Luftströmungen werden somit vernachlässigt.

2.3. Inhalationsmethode

Für die Inhalation vernebelt ein Ultraschallvernebler (HEYER USE 77) 1 ml der jeweiligen Testlösung (s. Tabelle 1) in einem 10 l-Beutel. Der Beutel wird anschließend an die Manschette der Körperkammer fixiert, in die das Meerschweinchen mittels eines Schlittens eingespannt ist, so daß es ausschließlich Luft aus dem Beutel atmen kann. Durch Walkbewegungen am Beutel wird für eine Zirkulation der Luft gesorgt. Bei einer Atemfrequenz von durchschnittlich 60/min und einem Atemvolumen von ca. 3 ml/Atemzug inhalieren die Meerschweinchen ca. 100 ml Aerosol in 30 Sekunden und 400 ml in 2 Minuten. Bei einer Vorbehandlung von 2 Minuten und 5 Behandlungen von 30 Sekunden mit einer 100 μ molaren Lösung inhalieren die Meerschweinchen eine Gesamtdosis von ca. 10 nmol Testsubstanz.

2.4. Verwendete Substanzen

Folgende Substanzen wurden verwendet:

2.4.1. Parachloromercuribenzoat

Bei 10 bzw. 7 Meerschweinchen erfolgten 5 Inhalationen (30 sec) mit 10 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 100 $\mu\text{mol/l}$ Parachloromercuribenzoat in physiologischer Kochsalzlösung mit 1 % Ovalbumin zu den Zeiten 0, 10, 20, 60 und 70 Minuten. Unmittelbar vor der 1. Inhalation wurde 2 Minuten lang 10 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 100 $\mu\text{mol/l}$ PCMB in physiologischer Kochsalzlösung verabreicht.

2.4.2. Kupfersulfat

Bei 13 bzw. 11 Meerschweinchen erfolgten 5 Inhalationen (30 sec) mit 10 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 100 $\mu\text{mol/l}$ Kupfersulfat in physiologischer Kochsalzlösung mit 1 % Ovalbumin. Die Lösungen wurden vor jeder Inhalation neu angesetzt, um eine mögliche Denaturierung des Ovalbumins durch die Kupferionen gering zu halten. Unmittelbar vor der 1. Inhalation wurde 2 Minuten lang ovalbuminfreie Kupferlösung gegeben.

2.4.3. Kupfer-Dithiotreitol-Komplex

8 Meerschweinchen wurden mit 5 Inhalationen mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Kupfer-Dithiotreitol, das aus zwei Teilen Kupfersulfat und einem Teil Dithiotreitol hergestellt wird, gelöst in 1 % Ovalbumin-Kochsalzlösung, behandelt. Die Lösungen wurden ebenfalls unmittelbar vor jeder Inhalation frisch hergestellt, um eine Denaturierung des Ovalbumins durch den Metallkomplex möglichst zu vermeiden. Unmittelbar vor der 1. Inhalation wurde jeweils mit ovalbuminfreier Komplex-Kochsalzlösung vorbehandelt.

2.4.4. Dithiotreitol

Bei 8 Meerschweinchen erfolgten 5 Inhalationen mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Dithiotreitol in 1 % Ovalbumin-Kochsalzlösung. Unmittelbar vor der 1. Inhalation war eine 2 Minuten dauernde Vorbehandlung mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Dithiotreitol-Kochsalzlösung.

2.4.5. Dimercaptopropanol

Nach zweiminütiger Vorbehandlung ohne Ovalbumin erfolgten bei 8 Meerschweinchen 5 Inhalationen mit 250 $\mu\text{mol/l}$ Dimercaptopropanol in Ovalbumin-Kochsalzlösung.

2.4.6. Aurothioglucose

Bei 8 Meerschweinchen erfolgten nach üblicher Vorbehandlung 5 Inhalationen mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Aurothioglucose in 1 % Ovalbumin-Kochsalzlösung.

Durch das gewohnte Testsystem (wiederholte Allergenbelastung zu den Zeiten 0, 10, 20, 60 und 70 min) kann eine mögliche Verstärkung der Allergentachyphylaxie kaum demonstriert werden, da Kontrolltiere bei der 4. und 5. Inhalation nur minimal reagieren. Deshalb wurden zusätzliche Experimente durchgeführt:

8 mit 100 $\mu\text{mol/l}$ Aurothioglucose (bzw. Zink-Dithiotreitol; s.a. 2.4.8) behandelte und Kontrolltiere wurden in zehnminütigem Abstand 1 % Ovalbumin ausgesetzt, solange, bis keine asthmatische Reaktion mehr meßbar war. Aurothioglucose (bzw. Zink-Dithiotreitol) wurde jeweils gleichzeitig mit Ovalbumin ohne Vorbehandlung verabreicht.

Um eine eventuelle Langzeitwirkung von Aurothioglucose zu untersuchen, inhalierten 9 Meerschweinchen 3 Minuten 5 mol/l Aurothioglucose. Sofort im Anschluß daran, sowie 3 Tage später, wurden jeweils

5 Inhalationen (10, 20, 30, 60, 70 min) mit 1 % Ovalbumin-Kochsalzlösung durchgeführt. Nach 3 und 6 weiteren Tagen folgten jeweils 3 Inhalationen in zehnmütigem Abstand, ebenfalls ohne Aurothioglucose. 4 Kontrolltiere wurden unter Weglassen der einmaligen Aurothioglucose-Inhalation in gleicher Weise behandelt.

2.4.7. Reduziertes Glutathion (GSH)

5 Meerschweinchen inhalierten fünfmal jeweils 100 $\mu\text{mol/l}$ Reduziertes Glutathion gelöst in 1 % Ovalbumin-Kochsalzlösung nach einer zweiminütigen Vorbehandlung mit ovalbuminfreier GSH-Kochsalzlösung.

12 andere Meerschweinchen erhielten über die gesamte Dauer der ansonsten gleichgestalteten Provokationstests 10 mmol/l Reduziertes Glutathion in der Dosierung 2,7 mg/h über einen zentralvenösen Katheter. Den Kontrolltieren wurde stattdessen 2,7 mg/h physiologische Kochsalzlösung in gleicher Weise zugeführt.

2.4.8. Zink-Dithiotreitol-Komplex

Zink-Dithiotreitol wurde wie Kupfer-Dithiotreitol hergestellt und 8 Meerschweinchen verabreicht.

8 mit 100 $\mu\text{mol/l}$ behandelte Tiere erhielten 1 % Ovalbumin-Kochsalzlösung im gleichmäßigen Zeitabstand von 10 Minuten (s.a. 2.4.6. Aurothioglucose).

2.4.9. Bezugsquellen

Ovalbumin, Dithiotreitol, Dimercaptopropanol, Parachloromercuribenzoat und Aurothioglucose wurden von Sigma (St. Louis, USA) erworben, Reduziertes Glutathion von Serva (Heidelberg), Kupfersulfat und Zinksulfat von Merck (Darmstadt).

2.5. Experimentelles Design

Die Behandlungen mit Ovalbumin und den Testsubstanzen erfolgten gemäß eines randomisierten Überkreuzprotokolls (s. Tabelle 1; Ausnahme: Aurothioglucose, s. 2.4.6.), um Fehlinterpretationen pharmakologischer Wirkungen, welche auf Sensibilisierungsminderung, Langzeitwirkungen von Testsubstanzen u.a. beruhen, zu vermeiden. Der zeitliche Abstand zwischen Test- und Kontrollmessungen betrug jeweils 4 Tage. Wenn zwischen gleich behandelten Tieren abhängig von der Reihenfolge der Behandlung (Ovalbumin bzw. Ovalbumin und Testsubstanz und umgekehrt) kein Unterschied in der Reaktionsweise festzustellen war, konnte angenommen werden, daß die zeitliche Reihenfolge von untergeordneter Bedeutung ist. Dann wurden die Ergebnisse beider Untergruppen zusammengekommen. Jede Einzelbehandlung bestand aus 5 Inhalationen zu den Zeiten 0, 10, 20, 60 und 70 Minuten plus Vorbehandlung (Ausnahme: Aurothioglucose und Aurothioglucose/Zink-Dithiotreitol) mit Messungen in zweiminütigem Abstand. Die 1. und 5. Inhalation wurden zur Beurteilung der Allergentachyphylaxie herangezogen.

2.6. Statistik

Die statistische Signifikanz der Reaktionsunterschiede wurde mittels des Student's t-Test für ungepaarte Werte ermittelt. Alle Darstellungen enthalten Durchschnittswerte und Standardabweichungen von "compressed air" ($\bar{x} \pm \sigma$)

Tier- gruppen	Versuchstage		
	1	5	9
A (n = 4)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /PCMB ₁₀	OA ₁₋₅ /PCMB ₁₀₀ (n=2)
B (n = 6)	OA ₁₋₅ /PCMB ₁₀	OA ₁₋₅	
C (n = 4)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /ZnDTT ₁₀₀	OA ₁₋₅ /CuDTT ₁₀₀
D (n = 4)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /CuDTT ₁₀	OA ₁₋₅ /ZnDTT ₁₀₀
E (n = 2)	OA ₁₋₅ /CuDTT ₁₀₀	OA ₁₋₅ /ZnDTT ₁₀₀	OA ₁₋₅
F (n = 4)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /DMP ₂₅₀	OA ₁₋₅ /Au ₁₀₀
G (n = 4)	OA ₁₋₅ /DMP ₂₅₀	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /Au ₁₀₀
H (n = 5)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /DTT ₁₀	OA ₁₋₅ /PCMB ₁₀₀
I (n = 3)	OA ₁₋₅ /DTT ₁₀₀	OA ₁₋₅	
J (n = 6)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /Cu ₁₀	OA ₁₋₅ /Cu ₁₀₀
K (n = 2)	OA ₁₋₅ /Cu ₁₀	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /GSH _{par}
L (n = 5)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /Cu ₁₀₀	OA ₁₋₅ /Cu ₁₀
M (n = 5)	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /GHS _{par}	
N (n = 5)	OA ₁₋₅ /GSH ₁₀₀ i	OA ₁₋₅	OA ₁₋₅ /GSH _{par}
O (n = 4)	OA _{1-x}	OA _{1-x} /ZnDTT ₁₀₀	OA _{1-x} /Au ₁₀₀
P (n = 4)	OA _{1-x} /ZnDTT ₁₀₀	OA _{1-x} /Au ₁₀₀	OA _{1-x}

Tabelle 1: Experimentelles Design. Randomisiertes Überkreuzprotokoll. Dieser Zeitplan wurde gewählt, um Fehlinterpretationen pharmakologischer Wirkungen zu vermeiden.

OA ₁₋₅	Sequenzallergengabe von 1 % Ovalbumin zu den Zeiten 0, 10, 20, 60 und 70 Minuten
OA _{1-x}	Sequenzallergengabe von 1 % Ovalbumin in zehnminütigem Abstand bis zum Eintritt der Allergentachyphylaxie
OA ₁₋₅ /PCMB ₁₀	Simultanbehandlung: Sequenzgabe von 1 % Ovalbumin und 10 µmol/l PCMB-Aerosol
Au	Aurothioglucose
Cu ₁₀ Cu ₁₀₀	Kupfersulfat (10 bzw. 100 µmol/l)
CuDTT	Kupfer-Dithiotreitol-Komplex
DMP	Dimercaptopropanol
GSH _i GSH _{par}	Reduziertes Glutathion verabreicht zur Inhalation als Aerosol (GSH _i , 100 µmol/l) bzw. parenteral GSH _{par} , 10 mg/h)
PCMB	Parachloromercuribenzoat
ZnDTT	Zink-Dithiotreitol-Komplex

Tabelle 2: Erklärung der Abkürzungen (zu Tab. 1)

3. Ergebnisse

3.1. Parachloromercuribenzoat

Parachloromercuribenzoat hemmt die Allergentachyphylaxie lebender Meerschweinchen signifikant ($p < 0,05$; $n=7$).

Bei den Kontrollmessungen trat die Allergentachyphylaxie wie erwartet ein: Die ersten 3 Allergenbehandlungen zu den Zeiten 0, 10 und 20 Minuten bewirkten deutlich stärkere asthmatische Reaktionen als die 4. und 5. Behandlung zu den Zeiten 60 und 70 Minuten, die nur minimale Reaktionen auslösten.

Die gleichzeitige Gabe von Parachloromercuribenzoat zusammen mit dem Allergen (Ovalbumin) beeinflusste die Stärke der asthmatischen Reaktionen auf die ersten 3 Inhalationen nicht, steigerte diese aber deutlich gegenüber den Kontrollversuchen bei den letzten beiden Inhalationen. Parachloromercuribenzoat wirkt also - wie alle geprüften Substanzen - selbst nicht unmittelbar bronchokonstriktorisch oder bronchodilatatorisch!

Parachloromercuribenzoat in einer Konzentration von $10 \mu\text{mol/l}$ hemmt die Allergentachyphylaxie beinahe im selben Ausmaß wie Parachloromercuribenzoat in einer Konzentration von $100 \mu\text{mol/l}$.

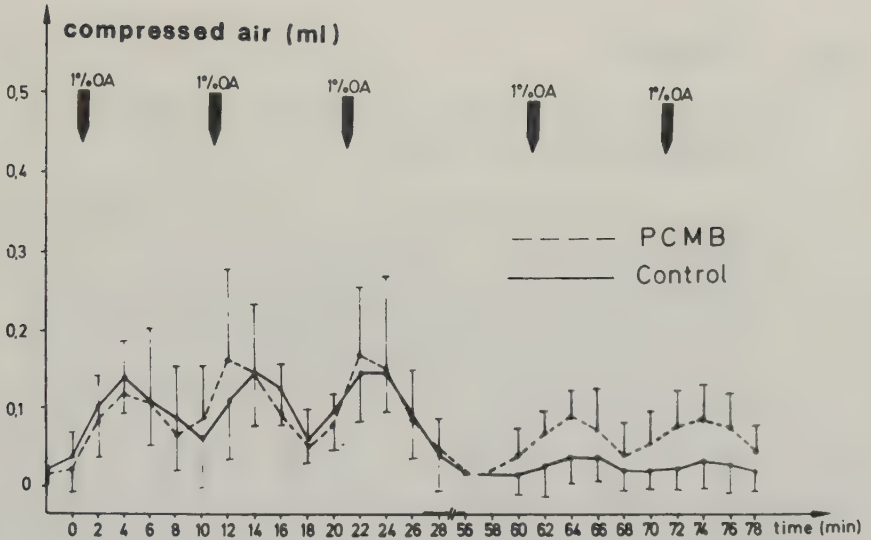


Abbildung 5 Hemmung der Allergentachyphylaxie durch Behandlung mit Parachloromercuribenzoat (100 $\mu\text{mol/l}$). Mittelwert (.) und Standardabweichungen (I) von "compressed air" von 7 Meerschweinchen (Gruppen A und H) nach wiederholter Allergeninhalation mit Parachloromercuribenzoat-Behandlung (.....) und ohne (.....). Die Unterschiede bei der 4. und 5. Inhalation sind signifikant ($p < 0,05$). Die maximalen Kontrollwerte von "compressed air" nach der 4. und 5. Inhalation: 0,02 $\pm$ 0,04 ml bzw. 0,02 $\pm$ 0,04 ml; im Vergleich dazu die Werte bei Behandlung mit Parachloromercuribenzoat (100 $\mu\text{mol/l}$): 0,09 $\pm$ 0,04 ml bzw. 0,08 $\pm$ 0,04 ml;

3.2. Kupfersulfat

Ähnlich wie Parachloromercuribenzoat hemmt Kupfersulfat die Allergentachyphylaxie lebender Meerschweinchen ($p < 0,01$; $n=13$).

Bei Parachloromercuribenzoat war die Allergentachyphylaxie-Minderung bei Behandlung mit der höher konzentrierten Lösung ($100 \mu\text{mol/l}$) stärker (wenn auch nur mäßig). Im Gegensatz dazu war der Effekt von Kupfersulfat in der höheren Konzentration ($100 \mu\text{mol/l}$) gegenüber der niedrigeren ($10 \mu\text{mol/l}$) deutlich abgeschwächt.

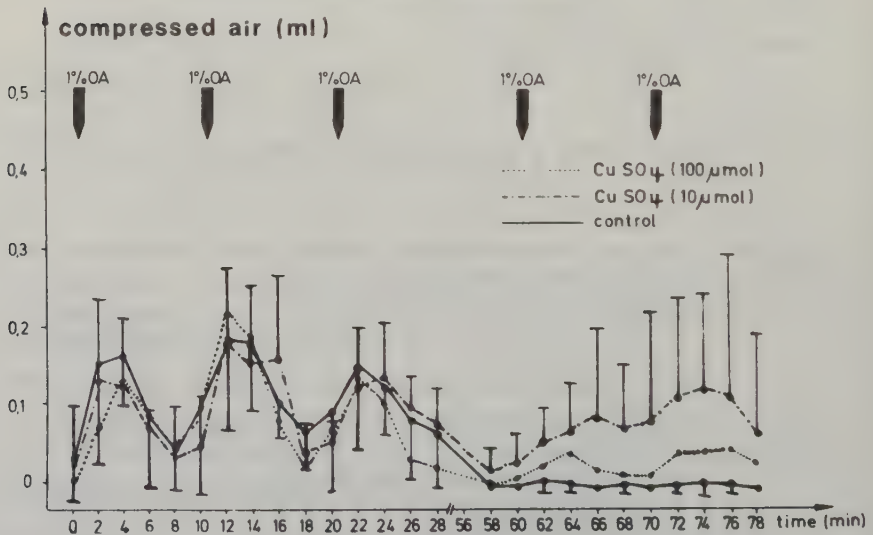


Abbildung 6

Hemmung der Allergentachyphylaxie durch Behandlung mit Kupfersulfat ($10 \mu\text{mol/l}$). Die höhere Kupfersulfatkonzentration ($100 \mu\text{mol/l}$) zeigt keinen Effekt.

Mittelwert (.) und Standardabweichung (I) von "compressed air" von 11 Meerschweinchen (Gruppen J und L) bzw. 13 Meerschweinchen (Gruppe J, K und L) nach wiederholter Allergeninhalation mit Kupfersulfat-Behandlung ($100 \mu\text{mol/l}$ ), bzw. $10 \mu\text{mol/l}$ ) und ohne Kupfersulfat-Behandlung (—).

Die Unterschiede der 4. und 5. Inhalation (Kontrolle und $10 \mu\text{mol/l}$ Kupfersulfat) sind signifikant ($p < 0,01$). Die maximalen Kontrollwerte von "compressed air" nach der 4. und 5. Inhalation:

$0,01 \pm 0,01 \text{ ml}$ bzw. $0,01 \pm 0,01 \text{ ml}$;

im Vergleich dazu die Werte bei Behandlung mit Kupfersulfat ($10 \mu\text{mol/l}$):

$0,09 \pm 0,10 \text{ ml}$ bzw. $0,11 \pm 0,11 \text{ ml}$.

3.3. Kupfer-Dithiotreitol-Komplex

Kupfer-Dithiotreitol in einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ hemmt die Allergentachyphylaxie bei Meerschweinchen deutlich ($p < 0,02$, 4. Inhalation; $p < 0,005$, 5. Inhalation; $n=9$).

Während die Meßwerte der ersten 3 Inhalationen wiederum beinahe übereinstimmten (s.a. 2.5.), war die asthmatische Reaktion bei den mit Kupfer-Dithiotreitol behandelten Versuchstieren nach den beiden letzten Inhalationen wesentlich stärker als bei den Kontrolltieren.

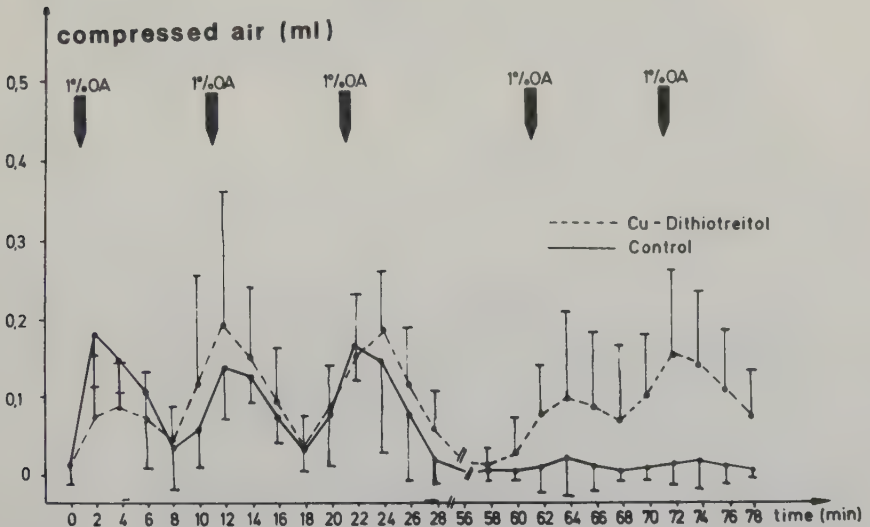


Abbildung 7 Hemmung der Allergentachyphylaxie durch Behandlung mit Kupfer-Dithiotreitol (100 $\mu\text{mol/l}$). Mittelwert (.) und Standardabweichung (I) von "compressed air" von 9 Meerschweinchen (Gruppen C₃D und E) nach wiederholter Allergeninhalation mit Kupfer-Dithiotreitol (---) und ohne Kupfer-Dithiotreitol (—). Die Unterschiede der 4. und 5. Inhalation sind signifikant ($p < 0,02$ bei der 4. Inhalation; $p < 0,005$ bei der 5. Inhalation). Die maximalen Kontrollwerte von "compressed air" nach der 4. und 5. Inhalation: 0,02 +/- 0,04 ml bzw. 0,02 +/- 0,04 ml; im Vergleich dazu die Werte bei Behandlung mit Kupfer-Dithiotreitol (100 $\mu\text{mol/l}$): 0,10 +/- 0,11 ml bzw. 0,15 +/- 0,11 ml

3.4. Dithiotreitol

Dithiotreitol zeigt in einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ keinen signifikanten Effekt auf die Allergentachyphylaxie ($p > 0,05!$; $n=8$), allenfalls eine leichte Hemmung.

3.5. Dimercaptopropanol

Dimercaptopropanol in einer Konzentration von 250 $\mu\text{mol/l}$ hemmt die Allergentachyphylaxie ähnlich wie Dithiotreitol, das ebenfalls ein Thiol ist, nicht signifikant ($p > 0,05!$; $n=8$).

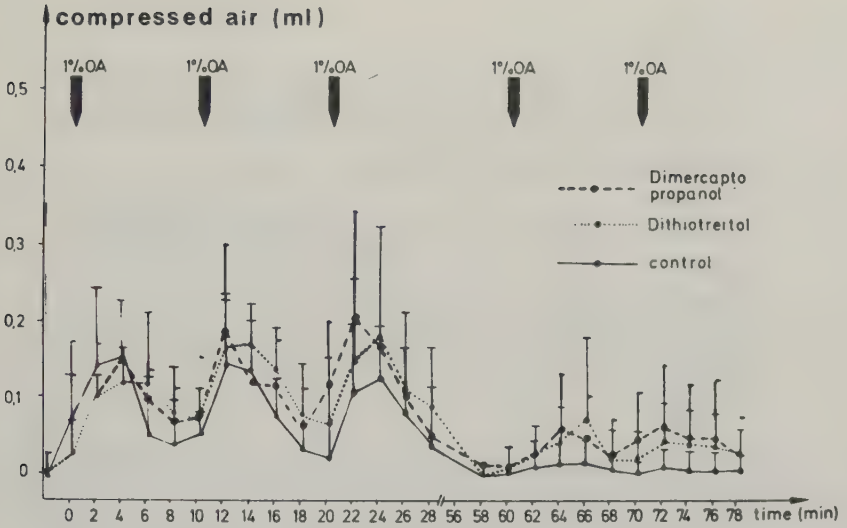


Abbildung 8

Beeinflussung der Allergentachyphylaxie durch Dimercaptopropanol (250 $\mu\text{mol/l}$) und Dithiotreitol (100 $\mu\text{mol/l}$).

Mittelwert (.) und Standardabweichung (I) von "compressed air" von jeweils 8 Meerschweinchen nach wiederholter Allergeneinhalation mit Dimercaptopropanol-Behandlung (Gruppen F und G, ---), mit Dithiotreitol-Behandlung (Gruppen H und I,) und ohne zusätzliche Behandlung (—).

Die Unterschiede der 4. und 5. Inhalation sind nicht signifikant ($p > 0,05$).

Die maximalen Kontrollwerte von "compressed air" der 4. und 5. Inhalation:

0,02 $\pm$ 0,04 ml bzw. 0,01 $\pm$ 0,02 ml;

im Vergleich dazu die Werte bei Behandlung mit Dimercaptopropanol:

0,07 $\pm$ 0,07 ml bzw. 0,07 $\pm$ 0,08 ml;

im Vergleich dazu die Werte bei Behandlung mit Dithiotreitol:

0,08 $\pm$ 0,11 ml bzw. 0,05 $\pm$ 0,05 ml;

3.6. Aurothioglucose

Aurothioglucose verursacht in der verwendeten Konzentration (100 $\mu\text{mol/l}$) im üblichen Testsystem keine Änderung der asthmatischen Reaktion nach der 4. und 5. Inhalation.

Das veränderte Testsystem (s. 2.4.6.) konnte eine Wirkung von Aurothioglucose aufzeigen. Bei der Allergeninhalation im regelmäßigen zehnminütigen Abstand trat die Allergentachyphylaxie bei mit Aurothioglucose behandelten Tieren (wie auch bei mit Zink-Dithiotreitol behandelten) früher ein als bei Kontrolltieren; genauere Ergebnisse siehe bei 3.8.!

Bei dem Langzeitversuch ($n=13$) nach einer einmaligen Gabe von 5 mol/l! Aurothioglucose ergab sich bei den unmittelbar nachfolgenden 5 Inhalationen mit 1 % Ovalbumin (10, 20, 30, 60, 70 min) kein wesentlicher Unterschied gegenüber den Kontrolltieren. Auch bei den 3 Tage später erfolgten 5 Inhalationen, bei 3 weiteren Inhalationen (10, 20, 30 min) 6 Tage nach der einmaligen Goldsalzgabe und bei 3 weiteren 9 Tage danach wichen die Werte bei Test- und Kontrolltieren nicht auseinander.

3.7. Reduziertes Glutathion

Reduziertes Glutathion als Aerosol in einer Konzentration von $100 \mu\text{mol/l}$ beeinflusst die Allergentachyphylaxie nicht.

10 mg/h Reduziertes Glutathion parenteral verabreicht verstärken jedoch astmatische Reaktionen nach der 4. und 5. Inhalation leicht aber signifikant ($p < 0,01$; $n=12$).

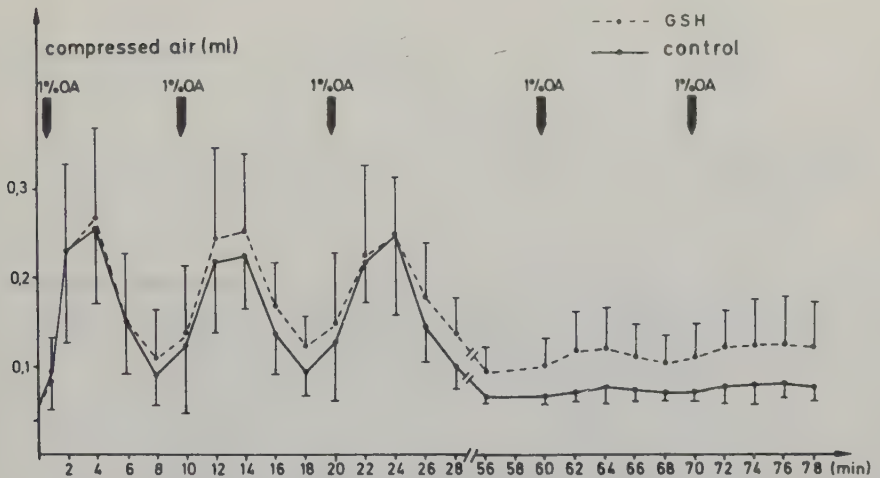


Abbildung 9 Beeinflussung der Allergentachyphylaxie durch Behandlung mit parenteral verabreichtem Reduziertem Glutathion (10 mmol/l; 2,7 ml/h)
Mittelwert (.) und Standardabweichung (I) von "compressed air" von 12 Meerschweinchen (Gruppen K, M und N) nach wiederholter Allergeninhalation mit GSH-Behandlung (---) und ohne (—).
Die Unterschiede der 4. und 5. Inhalation sind signifikant ($p < 0,01$).
Die maximalen Kontrollwerte von "compressed air" nach der 4. und 5. Inhalation:
 $0,08 \pm 0,02 \text{ ml}$ bzw. $0,08 \pm 0,02 \text{ ml}$;
im Vergleich dazu die Werte bei Behandlung mit Reduziertem Glutathion (10 mg/h):
 $0,11 \pm 0,05 \text{ ml}$ bzw. $0,12 \pm 0,06 \text{ ml}$.

3.8. Zink-Dithiotreitol-Komplex

Zink-Dithiotreitol in einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ verändert die Werte von "compressed air" nach der 4. und 5. Inhalation gegenüber den Kontrollen im üblichen Testsystem (10, 20, 30, 60, 70 min) unwesentlich.

Verglichen mit Kupfer-Dithiotreitol zeigt sich jedoch eine deutlich unterschiedliche Wirkung ($p < 0,01$; $n=8$).

Ähnlich wie bei Aurothioglucose führt das veränderte Testsystem (s. 2.4.6. und 2.4.8.) auch bei Zink-Dithiotreitol zu Ergebnissen, die von den Kontrollen abweichen.

Bei der Allergenzufuhr im regelmäßigen zehnminütigen Intervall verkürzt Zink-Dithiotreitol - wie auch Aurothioglucose - die Zeitdauer, die bis zum Eintritt der Allergentachyphylaxie vergeht. Während die Kontrolltiere bis zur 5. Inhalation asthmatisch reagieren, zeigen mit Zink-Dithiotreitol behandelte Meerschweinchen bei der 4. Allergenzufuhr keine Reaktion mehr, mit Aurothioglucose behandelte bei der 5. Inhalation.

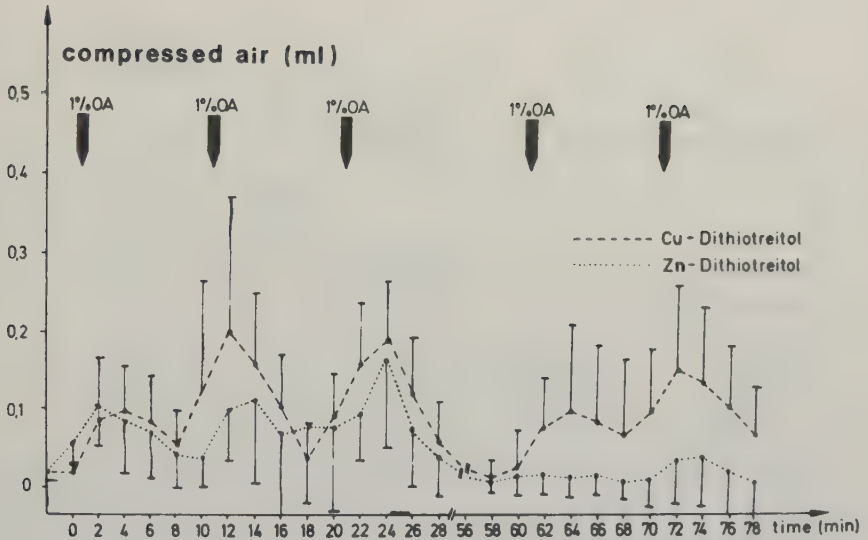


Abbildung 10 Vergleich der Wirkungen von Kupfer-Dithiotreitol ($100 \mu\text{mol/l}$) und Zink-Dithiotreitol ($100 \mu\text{mol/l}$) auf die Allegentachyphylaxie. Mittelwert (.) und Standardabweichung (I) von "compressed air" von 8 Meerschweinchen (Gruppen C, D und E) nach wiederholter Allergeninhalation mit Kupfer-Dithiotreitol- (---) und Zink-Dithiotreitol-Behandlung (.....). Die Unterschiede der 4. und 5. Inhalation sind signifikant ($p < 0,01$). Die maximalen Werte von "compressed air" nach der 4. und 5. Inhalation bei Behandlung mit Kupfer-Dithiotreitol: $0,10 \pm 0,11 \text{ ml}$ bzw. $0,15 \pm 0,11 \text{ ml}$; im Vergleich dazu die Werte bei Behandlung mit Zink-Dithiotreitol: $0,01 \pm 0,02 \text{ ml}$ bzw. $0,03 \pm 0,07 \text{ ml}$.

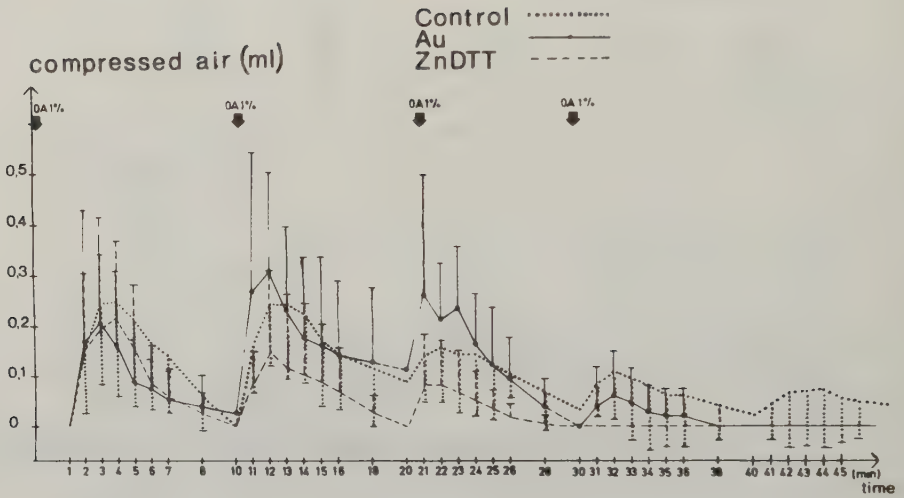


Abbildung 11 Beschleunigter Eintritt der Allergentachyphylaxie durch Behandlung mit Aurothioglucose (100 $\mu\text{mol/l}$) bzw. Zink-Dithiotreitol (100 $\mu\text{mol/l}$). Mittelwert (.) und Standardabweichung (I) von "compressed air" während der Allergenbehandlung im regelmäßigen zehnminütigen Intervall von 8 Meerschweinchen (Gruppen O und P) mit Aurothioglucose-Behandlung (—.) mit Zink-Dithiotreitol-Behandlung (- - -.) und ohne zusätzliche Behandlung (.....).

4. Diskussion

Die gestellte Frage lautet: Wie wird die Allergentachyphylaxie bei Meerschweinchen in vivo durch Modulatoren der Prostaglandin E_2 -Synthese beeinflusst?

Anlaß für meine Untersuchungen waren folgende Beobachtungen:

Glatte Muskulatur der Hundetrachea kontrahiert sich nach wiederholter Histamingabe wesentlich schwächer als zu Beginn des Versuches. Dieses Nachlassen der Reaktionsbereitschaft wird durch Zykllooxygenasehemmer vermindert. Dieser Effekt wiederum kann durch exogene Zufuhr von Prostaglandin E_2 , das auch in der Muskulatur selbst gebildet wird, aufgehoben werden (5, 6).

Die Arbeit baut auf In-vivo-V Versuchsergebnisse auf, die wahrscheinlich machen, daß Prostaglandin E_2 die Allergentachyphylaxie vermittelt (23): Wiederholte Allergenbelastung führt bei Meerschweinchen zu verminderter bronchialer Allergenempfindlichkeit, zur Allergentachyphylaxie. Eine Behandlung der Meerschweinchen mit Zykllooxygenaseinhibitoren (wie Acetylsalicylsäure und Indometacin) hemmt die Allergentachyphylaxie. Die zusätzliche Gabe von Prostaglandin E_2 in niedrigen Dosen, die selbst keine bronchodilatatorische Wirkung haben, stellt die normale Fähigkeit zur Allergentachyphylaxie wieder her.

Der Gegenspieler zu Prostaglandin E_2 ist Prostaglandin $F_{2\alpha}$, das im Gegensatz zu Prostaglandin E_2 nichtenzymatisch gebildet wird. Die Synthesewege (s. Biochemie 1.2.2.) und Wirkungen der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$ sind so eng miteinander gekoppelt, daß nur eine gemeinsame Betrachtung sinnvoll erscheint.

Die menschliche Lunge produziert Prostaglandin E_2 und $F_{2\alpha}$ bei Antigenbelastung (3, 4, 59, 67, 68, 76, 83). Bei Asthmapatienten ist der Plasmaspiegel von Prostaglandin E_2 höher als bei Normalpersonen und dadurch bei gleichem Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Spiegel das Verhältnis Prostaglandin $E_2/F_{2\alpha}$ erhöht (31, 64). Auch von Meerschweinchenlungen wird Prostaglandin E_2 - möglicherweise als endogener Regulator - nach Allergenbelastung freigesetzt (12, 52), ebenso von isolierter Hundetrachealmuskulatur nach Histaminbelastung (5, 6).

Prostaglandin E_2 und $F_{2\alpha}$ wirken teils synergistisch, teils antagonistisch. Beide steigern die Permeabilität von Hautgefäßen (Ratte/Mensch) bei experimentell erzeugten Ödemen (97). Prostaglandin E_2 relaxiert die menschliche glatte Bronchialmuskulatur in vitro (39, 85) und - wenn es inhaliert wird - in vivo (76, 78, 79). Prostaglandin $F_{2\alpha}$ dagegen ist beim Menschen ein Bronchokonstriktor in vitro (29, 85) und in vivo (50, 51, 58, 76, 79), wobei Asthmatiker bis zu 6.000-fach empfindlicher auf die Inhalation von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ reagieren als Normalpersonen (50, 51, 58, 60, 76, 79).

Um mögliche Zusammenhänge zwischen der Synthese der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$ und der Allergentachyphylaxie zu untersuchen, wurden meine Versuche mit Substanzen durchgeführt, die die Biosynthese der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$ modulieren. Dabei wirkt keine der getesteten Substanzen direkt bronchoobstruktiv oder bronchodilatierend, was durch Messungen unmittelbar nach der jeweils zweiminütigen Vorbehandlung und durch die annähernd gleiche Stärke der Reaktionen während der ersten 3 Inhalationen bei Test- und Kontrolltieren gut gezeigt werden konnte.

Substanzen, die die Synthese von Prostaglandin E_2 hemmen und die Synthese von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ begünstigen, wie Parachloromercuribenzoat, Kupfersulfat und Kupfer-Dithiotreitol, hemmen die Allergentachyphylaxie.

Parachloromercuribenzoat unterdrückt die enzymatische Umwandlung von zyklischen Endoperoxiden (Prostaglandine G_2 und H_2) zu Prostaglandin E_2 und stimuliert die Reduktion zu Prostaglandin $F_{2\alpha}$ bei einer Mikrosomenfraktion von Schafssamenblasen (34).

Sowohl in einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ als auch von 100 $\mu\text{mol/l}$ unterdrückt Parachloromercuribenzoat die Allergentachyphylaxie bei den behandelten Tieren hochsignifikant, ohne selbst unmittelbar bronchokonstriktorisch zu wirken.

Kupferionen und Kupfer-Dithiotreitol hemmen die Biosynthese der Prostaglandine E_2 und D_2 und fördern die nichtenzymatische Bildung von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (15, 44, 48).

Diesen Effekt erklärt man sich folgendermaßen:

Kupfer-Dithiotreitol steigert die Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Synthese durch nichtenzymatische Reduktion der Endoperoxide Prostaglandin H_2 und G_2 (15, 63). Kupferionen begünstigen in homogenisierten Schafsamenblasen die Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Synthese auf Kosten der Prostaglandin E_2 -Synthese durch beschleunigte selektive Inaktivierung der Prostaglandin E_2 -Synthetase (48, 82).

Kupferionen und Kupfer-Dithiotreitol inhibieren die 9-Ketoreduktase, die Prostaglandin $F_{2\alpha}$ zu Prostaglandin E_2 transformiert (86). Kupferionen und Kupfer-Dithiotreitol beeinflussen also die Prostaglandinsynthese auf enzymatischem und nichtenzymatischem Wege zugunsten von Prostaglandin $F_{2\alpha}$. Von Kupferionen (wie auch von Zinkionen) sind Wirkungen bekannt, die weit über den Prostaglandinstoffwechsel hinausgehen. Siehe Seite 32 ff!

Sowohl Kupfersulfat als auch Kupfer-Dithiotreitol unterdrücken die Allergentachyphylaxie bei Meerschweinchen in vivo deutlich. Überraschenderweise ist die Wirkung von 100 $\mu\text{mol/l}$ Kupfersulfat sehr viel geringer als die von 10 $\mu\text{mol/l}$ Kupfersulfat, was eventuell durch antiinflammatorische Eigenschaften von Kupferionen und besonders von Kupferkomplexen, die möglicherweise in vivo gebildet werden, erklärt werden mag (98). Siehe Seite 32 ff!

Thiole greifen auf äußerst komplexe und verschiedenartige Weise in den Metabolismus der Arachidonsäure ein. Mono- und Dithiole verändern das Prostaglandin $E_2/F_{2\alpha}$ - Verhältnis abhängig von der Anwesenheit von Kupferionen wahrscheinlich durch Hemmung der Metallchelatlagerung, Konkurrenz mit Enzym-Sulfhydryl-Gruppen und Reduktion von Enzym-Disulfid-Brücken (90). Diese Wirkungen können durch andere Chelatbildner und Sulfhydryl-Reagentien wie Penicillamincystein nicht beeinflusst werden (90).

Dimercaptopropanol und Dithiotreitol hemmen die Prostaglandin-Synthetase, die die Bildung des zyklischen Endoperoxids Prostaglandin G_2 (einem Ausgangsstoff der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$) aus ungesättigten Fettsäuren katalysiert (44, 71). Die Reaktion Prostaglandin G_2 Prostaglandin H_2 wird nicht gehemmt. Reduzierende Thiole wie Dimercaptopropanol stimulieren die nichtenzymatische Reduktion von Prostaglandin H_2 zu Prostaglandin $F_{2\alpha}$; dadurch wird die enzymatische Synthese von Prostaglandin E_2 vermindert (61, 63, 71).

Diesen die Prostaglandin $F_{2\alpha}$ - Synthese begünstigten Faktoren steht die Verlängerung der Halbwertszeit der Prostaglandin E_2 -Isomerase durch Dithiotreitol gegenüber (63). Durch den Schutz der sehr instabilen Prostaglandin E_2 -Isomerase vor Inaktivierung wird die Umwandlung von Prostaglandin H_2 zu Prostaglandin E_2 begünstigt (62).

Außerdem hemmen reduzierende Substanzen wie Thiole die von den SRS-C oder der Arachidonsäure induzierte Bildung von Thromboxanen in der Meerschweinchenlunge, was für Mercaptoethanol und Hydrochinon gezeigt werden konnte (89). Dies mag zu einer asthmaprotektiven Wirkung führen.

Thiole greifen nicht nur auf der Zykllooxygenase-Seite in den Arachidonsäure-Metabolismus ein, sondern auch auf der Lipoxygenase-Seite: Thiole wie Cystein, Cystin und Thioglycolat begünstigen bei perfundiertem menschlichem Lungengewebe in der kalziumabhängigen Phase der anaphylaktischen Reaktion die immunologische Freisetzung von SRS-A; Dimercaptoethanol senkt die SRS-A-Freisetzung (66).

Beide getesteten Thiole, Dimercaptopropanol und Dithiotreitol, vermindern die Allergentachyphylaxie nur leicht. Diese Reaktion ist möglicherweise als Summe vielfältiger Thiol-Wirkungen aufzufassen, die sich in Bezug auf die Allergentachyphylaxie beinahe aufheben.

Substanzen, die die Biosynthese von Prostaglandin E_2 begünstigen wie Aurothioglucose, Zink-Dithiotreitol und Reduziertes Glutathion zeigen mit Ausnahme von Reduziertem Glutathion (intravenös) bei Verwendung des üblichen Testschemas keine Wirkung auf die Allergentachyphylaxie. Bei der Allergeninhalation im regelmäßigen zehnmütigen Abstand zeigt sich, daß der Eintritt der Allergentachyphylaxie durch Aurothioglucose und Zink-Dithiotreitol deutlich beschleunigt wird.

Goldsalz stimuliert die Prostaglandin E_2 -Synthese in vitro und verändert somit das Verhältnis Prostaglandin $E_2/F_{2\alpha}$ zugunsten von Prostaglandin E_2 (82).

Wie bereits erwähnt tritt bei mit Gold behandelten Tieren die Allergentachyphylaxie früher ein.

Goldsalze finden Anwendung als Basistherapeutika für die Behandlung der Chronischen Polyarthritis (CP). Die Wirkungsweise ist nicht genau bekannt. Es wird aber vermutet, daß sie die Freisetzung lysosomaler Enzyme sowie die von Histamin bei anaphylaktischen Reaktionen hemmen (66). Goldsalze wurden lange Zeit zur Behandlung des Asthma bronchiale verwendet (55), später jedoch wegen ihrer beträchtlichen Nebenwirkungen in Europa nicht mehr genutzt. Allgemeinärzte in Japan wenden diese Behandlung bis heute erfolgreich an (56), ohne jedoch eine genaue Erklärung dafür zu haben. Eine mögliche Erklärung wäre die gesteigerte Allergentachyphylaxie.

Reduziertes Glutathion fungiert sowohl als Coenzym der Prostaglandin E_2 -Isomerase als auch der Prostaglandin D_2 -Isomerase (61, 62). Funktionell wirksam sind dabei die freie Sulfhydrylgruppe und das Tripeptid (61), nicht hingegen die Thiosterkomponente (71). In vitro steigt in Gegenwart von Reduziertem Glutathion in homogenisierten Mikrosomenfraktionen von Schafs- und Rindersamenblasen die Prostaglandin E_2 -Konzentration an (15, 34, 48, 71, 82). In perfundierten Meer-schweinchenlungen allerdings bewirkt die Gabe von Reduziertem Glutathion keine signifikante Veränderung der allergeninduzierten Prostaglandin E_2 -Biosynthese; es scheint aber die Prostaglandin E_2 -Synthese zu reduzieren (25).

Die Inhalation von Reduziertem Glutathion verändert die Allergentachyphylaxie nicht. Parenterale Gabe von Reduziertem Glutathion jedoch hemmt die Allergentachyphylaxie leicht, aber signifikant. Dieser unerwartete Effekt mag Folge einer gesteigerten Prostaglandin D_2 - oder Leukotrien-Synthese sein. Reduziertes Glutathion verbindet sich in vitro mit Leukotrien A_4 , woraus die bronchokonstriktiv wirkenden Leukotriene C_4 , D_4 und E_4 entstehen (19, 20, 57). Es mag sein, daß Reduziertes Glutathion im Überschuß nur zum geringen Teil die Prostaglandin E_2 -Synthese stimuliert hat und zum überwiegenden Teil die Leukotrien-Biosynthese.

Zink-Dithiotreitol stimuliert wie Goldsalz die Prostaglandin E_2 -Synthese in vitro (15, 82). Zink verringert die Prostaglandin-Synthese, wahrscheinlich durch Hemmung der Phospholipase, die die Arachidonsäure für die Prostaglandin-Synthese liefert (16, 49); außerdem steigert Zink die Membranaufnahme von Arachidonsäure.

Die Tatsache, daß mit dem üblichen Testsystem keine verstärkte Tachyphylaxie verifiziert werden kann, beruht wahrscheinlich auf ähnlichen Ursachen wie bei Aurothioglucose erwähnt. Zink-Dithiotreitol beschleunigt den Eintritt der Allergentachyphylaxie noch wirksamer als Aurothioglucose. Während Zink-Dithiotreitol die Allergentachyphylaxie also positiv zu beeinflussen scheint, wirkt Kupfer-Dithiotreitol eindeutig entgegengesetzt.

Dieses Ergebnis ist möglicherweise zu einem allgemeinen biologischen Phänomen in Beziehung zu setzen: Chronische Entzündungen gehen mit einem Anstieg des Plasmakupferspiegels und einem Abfall des Plasmazinkspiegels einher!

So z.B.: Der Serumkupferspiegel ist in der chronischen Phase der Spondylitis ancylosans (22, 54, 70, 98) und bei der rheumatischen Arthritis erhöht (8, 22, 77). Der Plasmazinkspiegel ist erniedrigt bei chronischen Lebererkrankungen (32), Lungeninfektionen, indolenten Ulcera (91), Herzinfarkt (92), Malignomen (2), ja, ein niedriger Zinkplasmaspiegel gilt sogar als unspezifischer Indikator für chronische Entzündungen und Malignome. Von Zink wird als Regulatorstoff gesprochen (17).

Umgekehrt führt sowohl Kupfermangel- als auch Zinkmangeldiät bei Ratten zu erhöhter Entzündungsbereitschaft (22). Kupferionen können für die Behandlung der chronischen Polyarthritits eingesetzt werden (98), Zinkionen beschleunigen die Heilung von granulierenden chirurgischen Wunden, wirken bei rheumatoider Arthritis genesungsfördernd (22) und senken die Histaminfreisetzung aus Mastzellen dosisabhängig (40), vielleicht durch Bildung eines Histamin-Zink-Chelats (28, 42).

Wichtig scheint dabei das Verhältnis zwischen Zink und Kupfer zu sein, die beide - wenn auch mit unterschiedlicher Affinität - von Coeruloplasmin und Albumin gebunden werden (98). Sowohl Zink als auch Kupfer sind Teil einer prostetischen Gruppe der Superoxiddismutase, die freie Radikale abfängt, die bei der Synthese von H_2O_2 während der Phagozytenaktivierung freigesetzt werden, und die damit Membranen stabilisiert (18, 22, 45). D-Penicillamin, das Kupfer bindet, wirkt antiphlogistisch, indem es durch Komplexbildung das Verhältnis zwischen freiem und gebundenem Kupfer verändert (98).

Somit ist auch zu verstehen, daß exogen zugeführtes Kupfer dosisabhängig entgegengesetzte Wirkungen hervorrufen kann. Angesichts solch komplexer Zusammenhänge fällt es schwer, die Wirkung der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$ genau abzugrenzen.

Meine Untersuchungen sollen indirekt (durch die Reaktion lebender Meerschweinchen, ohne die endogene Prostaglandinsynthese wirklich nachzuweisen) zeigen, wie Modulatoren der Prostaglandin E_2 -Synthese die Allergentachyphylaxie beeinflussen. Gerade auch weil die Untersuchungen indirekt vorgehen und Acetylsalicylsäure, ein Zykllooxygenaseinhibitor, die Allergen tachyphylaxie hemmt (23), müssen meine Ergebnisse zusammen mit denen anderer Untersuchungen über die Wirkungen der übrigen potenten Zykllooxygenase-Endprodukte betrachtet werden.

Zykllooxygenasehemmer (Acetylsalicylsäure, Indometacin) hemmen die Allergentachyphylaxie. Die exogene Zufuhr von Prostaglandin E_2 stellt die Fähigkeit zur Allergentachyphylaxie wieder her, nicht jedoch die Zufuhr von anderen Zykllooxygenase-Endprodukten wie Prostaglandin I_2 und D_2 .

Prostaglandin I_2 (Prostacyclin) wird von der Meerschweinchen- und der Menschenlunge nach Allergenzufuhr vermehrt freigesetzt (21). Prostaglandin I_2 hemmt die Freisetzung immunologischer Mediatoren nicht (37), hat keine bronchodilatierende Wirkung und schützt weder Meerschweinchen noch Menschen vor allergeninduzierter Bronchialobstruktion (10, 91). Unter bestimmten experimentellen Bedingungen zeigt Prostaglandin I_2 jedoch eine protektive Wirkung: Dies konnte beim Anstrengungsasthma des Menschen gezeigt werden (9), sowie bei der plättchenabhängigen Bronchialobstruktion des Meerschweinchens (90); Prostaglandin I_2 kann die Mediatorfreisetzung in Peritonealmastzellen von Ratten hemmen (14), verhindert bei sehr hoher Dosierung in vitro die Kontraktion glatter Trachealmuskulatur des Menschen und des Meerschweinchens (30) und hemmt die Bildung von SRS-A bei der anaphylaktischen Reaktion (14). Außerdem senkt Prostaglandin I_2 bei Meerschweinchen die Empfindlichkeit der Bronchialmuskulatur für Histamin nach wiederholter inhalativer Histaminbelastung (26). Die Allergentachyphylaxie von Tieren, die mit Zykllooxygenasehemmern (Acetylsalicylsäure) behandelt worden sind, wird durch Prostaglandin I_2 nicht wiederhergestellt (25)!

Hauptquelle des Prostaglandin D_2 ist die Mastzelle (76). Auch Prostaglandin D_2 zeigt abhängig vom jeweiligen Testsystem konträre Wirkungen: Prostaglandin D_2 konstringiert bei Meerschweinchen die peripheren Atemwege (75, 84, 94), scheint aber die Mediatorfreisetzung aus Rattenmastzellen zu hemmen (96). Aber auch entgegengesetzte Ergebnisse sind bekannt, wonach weder Prostaglandin I_2 noch Prostaglandin D_2 alleine die Freisetzung immunologischer Mediatoren aus Serosamastzellen hemmen können, obwohl beide den zellulären c AMP-Spiegel erhöhen (37). Allergenbelastung führt bei passiv sensibilisiertem menschlichem Lungenparenchym zu einem signifikanten Anstieg von Prostaglandin D_2 (wie auch von Prostaglandin E_2 , $F_{2\alpha}$, I_2 und Thromboxan A_2) (76). Ebenso wie durch Prostaglandin I_2 wird auch durch Prostaglandin D_2 die Fähigkeit zur Allergentachyphylaxie bei Aspirin-behandelten Tieren nicht wiederhergestellt (25)!

Thromboxan A_2 verursacht bei Meerschweinchen eine Bronchialobstruktion (33, 84) und erhöht die Leukotaxis, ebenfalls bei Meerschweinchen (12). Thromboxan A_2 wird - wie bereits erwähnt - bei Antigeneinfluß von menschlichem Lungenparenchym vermehrt freigesetzt (76). Thromboxan B_2 ist ein unwirksamer Metabolit von Thromboxan A_2 und chemisch stabiler (Halbwertszeit von Thromboxan A_2 : 30 sec) (39). Dazoxiben, das die Biosynthese von Thromboxanen selektiv hemmt, beeinflusst die Allergentachyphylaxie nicht (25, 87) !

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ als letztes zu diskutierendes Zyklooxygenase-Endprodukt ist ein potenter Bronchokonstriktor, der die Histaminfreisetzung fördert (39, 60, 80, 88). Ein stimulierender Einfluß auf die Allergentachyphylaxie ist nicht zu erwarten.

Die zitierten Befunde legen die Vermutung nahe, daß die Allergentachyphylaxie durch Prostaglandin E_2 vermittelt wird. Die von mir vorgelegten Daten bestätigen diese Vermutung.

Es gibt natürlich noch andere Regulationsmechanismen, die in die Steuerung der Intensität und Dauer von allergeninduziertem Asthma bronchiale eingreifen, wie z.B. die Histaminfreisetzung durch Histamin selbst via H_2 - Rezeptoren kontrolliert wird (46); eine prostaglandinabhängige Histamintachyphylaxie konnte in vitro an glatter Hundetrachealmuskulatur gezeigt werden (5, 6), ebensowohl eine prostaglandinunabhängige an Hundebronchialmuskulatur (13). Vor kurzem konnte eine Leukotrien B_4 -Tachyphylaxie an isoliertem Meerschweinchenlungengewebe demonstriert werden (19, 20).

5. Zusammenfassung

Anlaß für meine Versuche war die Frage:

Wird die Allergentachyphylaxie in vivo bei Meerschweinchen durch eine endogene Prostaglandin E_2 -Synthese vermittelt?

Es wurden 8 Modulatoren der Prostaglandin E_2 -Biosynthese getestet. Die Versuchsergebnisse liefern zum Teil hochsignifikante Resultate im Sinne der Hypothese. Dies sind weitere Indizien für deren Richtigkeit, wenn auch kein Beweis erbracht werden kann. Die versuchte Beweisführung in den Experimenten ist indirekt, da kein strenger paralleler Verlauf von endogener Prostaglandin E_2 -Biosynthese und der Allergentachyphylaxieentwicklung demonstriert werden kann. Andererseits kann endogene pulmonale Prostaglandin E_2 -Biosynthese nur unter Verwendung invasiver Methoden untersucht werden. Die in diesen Experimenten verwendete Lungenfunktionsmessung ist nicht invasiv und erlaubt wiederholte Messungen der Bronchialobstruktion über lange Zeit ohne Verwendung zusätzlicher Medikamente wie Tranquilizer oder Anästhetika. Erst dadurch wird das randomisierte Überkreuzprotokoll ermöglicht. Nachzuführen blieben Versuche, die zeigen, ob die Testsubstanzen die Prostaglandin E_2 -Synthese in der Meerschweinchenlunge tatsächlich stimulieren bzw. hemmen. Als Konsequenz für den klinischen Bereich ergeben sich, auch wenn die Meerschweinchenlunge und die menschliche Lunge nicht gleichgesetzt werden können u.a. folgende Fragen:

- Inwieweit sind Nebenwirkungen von Pharmaka (z.B. Bronchokonstriktion bei Aspirinintoleranz) durch Modulation der Prostaglandin-Synthese und daraus resultierender Hemmung der Allergentachyphylaxie gegenüber Umweltallergenen erklärbar?
- Wie wirken unter diesem Gesichtspunkt Sulfhydrylgruppen in Pharmaka?
- Gibt es spezifische Stimulatoren, die in erster Linie das Verhältnis Prostaglandin $E_2/F_{2\alpha}$ verändern können und weniger schwerwiegende Nebenwirkungen zeigen als z.B. Goldsalz?
- Kann man dadurch die Allergentachyphylaxie bei Patienten positiv beeinflussen?

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. AAS, K.: Biochemie und immunologische Grundlagen des
Bronchialtonus.
Triangel Bd 17 Nr 3/4 (1978)
2. ADDINK, N.; FRANK, L.:
Cancer, 12, 544 (1959)
3. ADKINSON, N. JR.; NEWBALL, H.; FINDLAY, S.; ADAMS, G.;
Lichtenstein L.:
Origin of $\text{PGF}_{2\alpha}$ -produktion following anaphylactic
challenge of human lung.
Monogr Allergy 14: 122-125 (1979)
4. ADKINSON, N. JR.; NEWBALL, H.; FINDLAY, S.; ADAMS, G.;
Lichtenstein L.:
Anaphylactic release of prostaglandins from human
lung in vitro.
Am Rev Respir Dis 121: 911-920 (1980)
5. ANDERSON, W.; KRZANOWSKI, J.; POLSON, J.; SZENTIVANYI, A.:
Increased synthesis of prostaglandin-like material
during histamin tachyphylaxis in canine tracheal
smooth muscle.
Biochem Pharmacol 28: 2223-2226 (1979 a)
6. ANDERSON, W.; KRZANOWSKI, J.; POLSON, J.; SZENTIVANYI, A.:
Characteristics of histamine tachyphylaxis in canine
tracheal smooth muscle.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 308: 117-125
(1979 b)
7. AUSTEN, K.: Putative chemical mediators in allergic asthmatic
disease.
Triangel Bd 17 Nr 3/4 (1978)
8. BAJPAYEE, D.: Significance of plasma copper and caeruloplasmin in
rheumatoid arthritis.
Am Rheum Dis 34: 162-169 (1975)
9. BIANCO, S.; ROBUSCHI, M.; CESERANI, R.; GANDOLFI, C.;
KAMBUROFF, N.:
Prevention of aspecifically induced bronchoconstriction
by PGI_2 and methyl PGI_2 in asthmatic patients.
Pharm Res Comm 10: 651-661 (1978)
10. BIANCO, S.; ROBUSCHI, R.; GRUGNO, A.; CESERANI, R.;
GANDOLFI, C.:
Effect of prostacyclin on antigen induced immediate
bronchoconstriction in asthmatic patients.
Prostaglandins Med 3: 39-45 (1979)

11. BIRNBAUM, J.; BIRKHEAD, N.; ORONSKY, A.:
Bronchodilator activity of a PGE₂ analog in animals
and in man.
Prostaglandins Vol 21 No 3, 457-469 (1981)
12. BOOT, J.; DAWSON, W.; COCKERILL, A.; MALLIN, D.; OSBORNE, D.:
The pharmacology of prostaglandin-like substances
released from guinea pig lungs during anaphylaxis.
Prostaglandins 11: 933-942 (1977)
13. BRINK, C.; DUCAN, P.; DOUGLAS, J.:
Histamine tachyphylaxis in canine isolated airways:
role of endogenous prostaglandins.
J Pharmacol 34: 199-201 (1982)
14. BURKA, J.; GARLAND, L.:
A possible modulatory role for prostacyclin (PGI₂) in
IgG -induced release of slow-reacting substance of
anaphylaxis in rats.
Br J Pharmac 61: 697-699 (1977)
15. CHAN, J.; NAGASAWA, M.; TAKEGUCHI, C.; SIH, C.:
On agents favoring prostaglandin F formation during
biosynthesis.
Biochemistry 14: 2987-2991 (1975)
16. CHVAPIL, M.:
Effect of zinc on cells and biomembranes.
Med Clin N Am 60: 799-812 (1976)
17. CHVAPIL, M.; STANKOVA, L.; WELDY, P.; BERNHARD, D.; CAMPBELL,
J.; CARLSON, E.; COX, T.; PEACOCK, J.; BARTOS,
Z.; ZUKOSKI, C.:
The role of zinc in the function of some
inflammatory cells.
Prog Chin Biol Res 14: 103-127 (1977)
18. CORD MC, J.:
Free radicals and inflammation protection of synovial
fluid by superoxide dismutase.
Science 185: 529-531 (1974)
19. DAHLEN, S.:
The significance of liberated cyclooxygenase products
for the pulmonary and cardiovascular actions of
leukotriene C₄ in the guinea pig depends upon the
route of administration.
Acta Physiol Scand 118: 415-421 (1983 a)
20. DAHLEN, S.; HEDQVIST, P.; WESTLUND, P.; GRANSTRÖM, E.;
HAMMARSTRÖM, S.; LINDGREN, J.; RADMARK, O.:
Mechanisms of leukotriene-induced contractions of
guinea pig airways: Leukotriene C₄ has a potent
direct action whereas leukotriene B₄ acts indirectly.
Acta Physiol Scand 118: 393-403 (1983 b)

21. DAWSON, W.; BOOT, J.; COCKERILL, A.; MALLIN, D.; OSBORNE, D.:
Release of novel prostaglandins and thromboxanes
after immunological challenge of guinea pig lung.
Nature (Lond) 262: 699-702 (1976)
22. DENKO, C.; PETRICEVIC, M.; WHITEHOUSE, M.:
Inflammation in relation to dietary intake of zinc and
copper.
Int J Tiss Reac III(2): 73-76 (1981)
23. DORSCH, W.; FREY, L.:
Allergen tachyphylaxis of guinea pigs in vivo: a
prostaglandin E mediated phenomenon?
Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 317: 351-356
(1981 a)
24. DORSCH, W.; WALDHERR, U.; ROSMANITH, J.:
Continuous recording of intrapulmonary "Compressed
Air" as a sensitive noninvasive method of measuring
bronchial obstruction in guinea pigs.
Pflügers Arch 391: 236-241 (1981 b)
25. DORSCH, W.; FREY, L.; MÜLLER, W.:
In vivo allergen tachyphylaxis in guinea pig lung is
mediated by endogenous prostaglandin E biosynthesis.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 325: 275-282
(1984)
26. DORSCH, W.: unveröffentlicht.
27. DUTILH, C.; HADDEMAN, E.; JOMENAZ, G.; HOOR, F.;
NUGTEREN, D.:
Study of the two pathways for arachidionate
oxygenation in blood platelets.
Lipids 14 (2): 241-246 (1979)
28. FIEDLER, H.; HAHN VON DORSCH, H.; FEHRMAN, P.; SULZMANN, R.:
Aufnahme von Zink-65 in Mastzellen nach
Degranulierung durch Kupferdinatriumäthylen-
diaminetetraacetat.
Histochemie 24: 150-155 (1970)
29. GARDINER, P.: The effects of some natural prostaglandins on isolated
human circular bronchial muscle.
Prostaglandins 10: 607-616 (1975)
30. GARDINER, P.; COLLIER, H.:
Specific receptors for prostaglandins in airway.
Prostaglandins 19: 819-841 (1980)

31. GODARD, P.; CHANTREUIL, J.; CLANZEL, A.; PAULET, A.; MICHEL, F.:
Plasma concentrations of PG E_2 and $F_{2\alpha}$ in asthmatic patients.
Respiration 42: 43-51 (1981)
32. HALSTED, J.: Plasma zinc in health and disease.
Lancet 1: 322-324 (1977)
33. HAMBERG, M.; HEDQVIST, P.; STRANDBERG, K.; SVENSSON, J.; SAMUELSSON, B.:
Prostaglandin endoperoxides, effects on smooth muscle.
Lile Sci 16: 451-462 (1975)
34. HAMBERG, M.; SAMUELSSON, B.:
Detection and isolation of an endoperoxide intermediate in prostaglandin biosynthesis.
Proc Nat Acad Sci 70: 899-903 (1973)
35. HENSBY, C.: Distribution studies on the reduction of Pg E_2 to Pg $F_{2\alpha}$ by tissue homogenates.
Biochimica et Biophysica Acta 409: 225-234 (1975)
36. HIRATA, F.; AXELROD, J.:
Kaskade der biochemischen Vorgänge in der Zellmembran der Mastzelle.
Science 209: 1082 (1980)
37. HOLGATE, S.; LEWIS, R.; MAGUIRE, J.; ROBERTS, L.; OATES, J.; AUSTEN, K.:
Effects of prostaglandin D_2 on rat serosal mast cells: Discordance between immunologic mediator release and cyclic AMP levels.
The Journal of Immunology Vol 25 No 3 (1980)
38. HOLGATE, S.; LEWIS, R.; AUSTEN, K.:
Mast cell activation and secretion.
New trends in allergy: 9 (1981)
39. KADOWITZ, P.; JOINES, P.; HYMAN, A.:
Physiological and pharmacological roles of prostaglandins.
Prostaglandins: 285-305 (1975)
40. KALINER, M.: Human lung tissue and anaphylaxis; cyclic nucleotide response and PG synthesis.
Monogr Allergy 14: 119-121 (1979)
41. KAZIMIERCZAK, W.; MASLINSKI, C.:
The effect of zinc ions on selective and nonselective histamine release in vitro.
Agents Actions 4: 1-6 (1974)

42. KELLER, R.; SORKIN, E.:
Selective incorporation of zinc into rat mast cells.
Experientia 26: 30-31 (1970)
43. KUNKEL, G.:
Bronchomotorischer Tonus (nervöse, humorale und umweltbedingte Einflüsse).
Allergologie, Jahrgang 1 No 4: 197-206 (1978)
44. LEE, R.; LANDS, W.:
Cofactors in the biosynthesis of Prostaglandins F_1 and F_2 .
Biochem Biophys Acta 260: 203-211 (1971)
45. LENGFELDER, E.; WESER, U.:
Superoxide dismutation by low molecular weight Cu-complexes.
Bull europ Physiopath resp 17 (suppl): 73-80 (1981)
46. LICHTENSTEIN, L.; GILLESPIE, E.:
Inhibition of histamine release by histamine controlled H_2 receptors.
Nature 244: 287-288 (1973)
47. LIMAS, C.:
Selective stimulation of venous PGE 9 ketoreductase by bradykinin.
Biochimica et Biophysica Acta 498: 306-315 (1977)
48. MADDOX, I.:
The role of copper in prostaglandin synthesis.
Biochem Biophys Acta 306: 74-81 (1973)
49. MAPES, C.; BAILEY, P.; MATSON, C.; HAUER, E.; SABOCINSKI, P.:
In vitro and in vivo actions of zinc ion affecting substances which influence host metabolic responses to inflammation.
Cell Physiol 95: 115-124 (1978)
50. MATHE, A.; HEDQVIST, P.; HOLMGRON, A.; SVANBORG, N.:
Bronchial hyperreactivity to prostaglandin $F_{2\alpha}$ and histamine in patients with asthma.
Br Med J 1: 193-196 (1973)
51. MATHE, A.; HEDQVIST, P.:
Effects of prostaglandins $F_{2\alpha}$ and E_2 on airway conductance in healthy subjects and asthmatic patients.
Am Rev Respir Dis 111: 313-320 (1975)
52. MATHE, A.:
Studies on actions of prostaglandins in the lung.
Acta Physiol Scand Suppl 441: 1-55 (1976)
53. MEIER-SYDOW, J.; GONSIOR, E.:
Die physiologische Regulation des Bronchialtonus.
Triangel Bd 17 Nr 3/4 (1978)

54. MILANINO, R.; PASSARELLA, E.; VELO, G.:
Copper and the inflammatory process.
Inflammation research Vol 1 pp 281-291 (1979)
55. MONTAGNA, C.; RIMOLDI, A.:
Goldbehandlung des kindlichen Asthma.
Dtsch Med Wochenschrift 50: 2055-2066
56. MURANAKA, M.; NAKAJIMA, K.; SUZUKI, S.:
Bronchial responsiveness to acetylcholine in patients
with bronchial asthma after longterm treatment with
gold salt.
J Allergy Clin Immunol 67: 350-356 (1981)
57. MURPHY, R.; HAMMERSTRÖM, S.; SAMUELSSON, B.:
Leukotriene C: A slow-reacting substance from
murine mastocytoma cells.
Proc Natl Acad Sci 76: 4275-4279 (1979)
58. NEWBALL, H.; LENFANT, C.:
The influence of atropine and cromolyn on human
bronchial hyperreactivity to aerosolized prostaglandin
F_{2α}.
Respir Physiol 30: 125-136 (1977)
59. NEWBALL, H.; ADKINSON, N.; ADAMS, G.; FINDLAY, S.;
LICHTENSTEIN, I.:
Mechanism of anaphylactic release of prostaglandins
(PGs) from human lung.
J Allergy Clin Immunol 61: 148 (1978)
60. NEWBALL, H.; KEISER, H.; LENFANT, C.:
Prostaglandin F_{2α} functions as a local hormone on
human airways.
Respir Physiol 41: 183-197 (1980)
61. NUGTEREN, D.; HAZELHOF, E.:
Isolation and properties of intermediates in
prostaglandin biosynthesis.
Biochem Biophys Acta 326: 448-461 (1973)
62. OGINO, N.; MIYAMOTO, T.; YAMAMOTO, S.; HAYAISHI, O.:
Prostaglandin endoperoxide E isomerase from bovine
vesicular gland microsomes, a glutathione-requiring
enzyme.
J Biol Chem 252: 890-895 (1977)
63. OHKI, S.; OGINO, N.; YAMAMOTO, S.; HAYAISHI, O.; YAMAMOTO, H.;
MIYAKE, H.; HAYASHI, M.:
Inhibition of prostaglandin endoperoxide synthetase by
thiol analogues of prostaglandin.
Proc Natl Acad Sci 74: 144-148 (1977)

64. OKAZAKI, T.; REISMANN, R.; ARBESMAN, C.; MEDDLETON, E.:
Plasma PG concentration in allergic bronchial asthma.
Int Archs Allergy appl Immun 57: 279-281 (1978)
65. ORANGE, R.; LANGER, H.:
Proceedings of VIII. international congress of
allergology.
Tokio p 325 Excerpta Medica Amsterdam (1973)
66. OVERHOFF, H.; FORTH, W.:
Arzneistoffe zur Behandlung entzündlicher
Erkrankungen.
Dtsch Ärzteblatt Heft 18 v 03. Mai (1979)
67. PIPER, P.; WALKER, J.:
The release of spasmogenic substances from human
chopped lung tissue and its inhibition.
Br J pharmacol 47: 291-304 (1973)
68. PLATSHOHN, I.; KALINER, M.:
The effects of the immunologic release of histamine
upon human lung cyclic nucleotide levels and
prostaglandin synthesis.
J Clin Invest 62: 1113-1121 (1978)
69. PSCHYREMBEL, W.: Klinisches Wörterbuch.
W de Gruyter Berlin New York (1982)
70. PSHETAKOVSKY, I.: Pathogenetic role of trace elements (Cu, Ni, Mn) and
their diagnostic value in ankylosing spondylitis
(Bekterev's disease).
Vop Rheum 13: 17-20 (1973)
71. RAZ, A.; KENIG-WAKSHAL, R.; SCHWARTZMANN, M.:
Effect of organic compounds on the chemical and
enzymatic transformation of prostaglandin
endoperoxide H_2 .
Biochem Biophys Acta 448: 329-332
72. RAZ, A.; AKARONY, D.:
PG biosynthesis in platelets: demonstration and role
of PG H_2 - E_2 Isomerase.
Res Comm in Chem Path and Pharm Vol 21 No 3
(1978)
73. RING, J.:
Zyklisches Adenosin -3 -5 -Monophosphat (c-AMP) und
Allergie.
Der Hautarzt Springer Verlag 29: 625-631 (1978)
74. RING, J.:
Mechanismen der akuten allergischen Reaktion.
Münchn med Wochenschrift 123 Nr 44: 1670 -
1674 (1981)

75. SCHNEIDER, M.; DRAZEN, J.:
Comparative in vitro effects of arachidonic acid metabolites on tracheal spiral and parenchymal strips.
Am Rev Resp Dis 121: 835-842 (1980)
76. SCHULMAN, E.; NEWBALL, H.; DEMERS, L.; FITZPATRICK, F.;
ADKINSON, N.:
Anaphylactic release of thromboxane A_2 ,
prostaglandin D_2 , and prostacyclin from human lung
parenchyma.
Am Rev Respir Dis 124: 402-406 (1981)
77. SCUDDER, P.; AL TIMINI, D.; MURRAY MC, W.; WHITE, A.; ZOOB, B.;
DORMANDY, T.:
Serum copper and related variables in rheumatoid
arthritis.
Am Rheum Dis 37: 67-70 (1978)
78. SMITH, A.; CUTHBERT, M.:
Effects of inhaled prostaglandins on bronchial tone in
man.
Advances in the biosciences Vol 9 Elmsford NY
Pergamon Press: 213 (1973)
79. SMITH, A.; CUTHBERT, M.; DUNLOP, L.:
Effects of inhaled prostaglandins E_1 , E_2 and $F_{2\alpha}$ on
the airway resistance of healthy and asthmatic man.
Clin Sci Mol Med 48: 421-430 (1975)
80. BRAASCH, P.; INGRAM, R.; LORING, S.; DRAZEN, J.:
Effects of beta adrenergic blockade on histamine and
PG $F_{2\alpha}$ responsiveness in the dog.
Allergy Clin Immunol Vol 67 No 3: 199-205 (1981)
81. SOTER, N.; AUSTEN, K.:
The diversity of mast cell derived mediators
implications for acute, subacute and chronic
cutaneous inflammatory disorders.
Invest Dermatol 67: 313-319 (1976)
82. STONE, K.; MATHER, S.; GIBSON, P.:
Selective inhibition of prostaglandin biosynthesis by
gold salts and phenylbutazone.
Prostaglandins 10: 241-251 (1975)
83. STRANDBERG, K.; MATHE, A.; YEN, S.:
Release of histamine and formation of prostaglandins
in human lung tissue and rat mast cells.
Int Arch Allergy Appl Immunol 53: 520-529 (1977)
84. SVENSSON, J.; STRANDBERG, K.; TUREMO, T.; HAMBERG, M.:
Thromboxane A_2 : Effects on airway and vascular
smooth muscle.
Prostaglandins 14: 425-436 (1977)

85. SWEATMAN, W.; COLLIER, H.:
Effects of prostaglandins on human bronchial muscle.
Nature 217: 69 (1968)
86. THUY, L.; CARPENTER, M.:
Prostaglandin E_2 -9-ketoreductase of rat testis.
Biochem Biophys Res Comm 81: 322-328 (1978)
87. TYLER, H.; SAXTON, C.; PARRY, J.:
Administration to man of UK-37, 248-01, a selective
inhibitor of thromboxane synthetase.
The Lancet 21: 629-632 (1981)
88. ULMER, W.; ISLAM, M.; ZIMMERMANN, I.:
Das überempfindliche Bronchialsystem.
Med Clin 72: 1049-1062 (1977)
89. VARGAFTIG, B.; DAO HAI, H.:
Interference of some thiol derivatives with the
pharmacological effects of arachidonic acid and slow
reacting substance C and with the release of rabbit
aorta contracting substance.
Eur J Pharmacol 18: 43-55 (1972)
90. VARGAFTIG, B.; LEFORT, J.:
Differential effects of prostacyclin and prostaglandin
 E_1 on bronchoconstriction and thrombocytopenia
during collagen and arachidonate infusions and
anaphylactic in the guinea pig.
Prostaglandins 18: 519-528 (1979)
91. VIKBLADH, I.; SCAND, J.:
Clin Lab Invest 3 Suppl No 2,1 (1951)
92. WACKER, W.; ULMER, D.; VALLEE, B.:
New Engl J Med 255: 449 (1956)
93. WALDHERR, U.:
Inaugural-Dissertation (LMU München).
Compressed air - Ein neuer Parameter zur nicht-
invasiven Messung der Bronchialobstruktion bei
Meerschweinchen. (1983)
94. WASSERMANN, M.; DU CHARME, D.; GRIFFIN, R.; DE GRAAF, G.;
ROBINSON, F.:
Bronchopulmonary and cardiovascular effects of
prostaglandin D_2 in the dog.
Prostaglandins 13: 255 (1977)
95. WASSERMANN, M.; GRIFFIN, R.; MARSALISI, F.:
Inhibition of bronchoconstriction by aerosols of
prostaglandins E_1 and E_2 .
J Pharmacol Exp Ther 214: 68-73 (1980)

96. WESCOTT, S.; KALINER, M.:
The effect of histamine and prostaglandin D_2 on rat
mast cell cyclic AMP and mediator release.²
J Allergy Clin Immunol 68: 383-391 (1981)
97. WILLIAMS, T.; MARLEY, J.:
Prostaglandins as potentiators of increased vascular
permeability in inflammation.
Nature 246: 215-217 (1973)
98. WHITEHOUSE, M.: Ambivalent role of copper in inflammatory disorders.
Agents Actions 6: 201-206 (1975)
99. YAMAGUCHI, T.; YUSA, K.; YAMAZAKI, M.:
The bronchodilator activity of 20-isopropylidene
prostaglandin E_2 (Cs-412).
Prostaglandins Vol 20 No 3 (1980)

Herrn Professor Dr. med. H. Spieß danke ich herzlichst für die Arbeitsmöglichkeit in seiner Klinik.

Mein besonderer Dank gilt Herr Dr. med. W. Dorsch für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung während der experimentellen Untersuchungen und die stets sehr hilfreiche Unterstützung bei der schriftlichen Abfassung der Arbeit.

Außerdem bedanke ich mich sehr herzlich bei Frl. B. Höckmeier, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

LEBENS L A U F

Name:	Walter Andreas Müller
geb. am:	14. April 1959
in:	Freyung
Eltern:	Karl Müller Regina Müller geb. Braunauer
Volksschule:	1965 - 1969 Schule an der Schleißheimer Straße in München
Gymnasium:	1969 - 1978 Oskar-von-Miller-Gymnasium in München
Bundeswehr:	1978 Eintritt als Sanitätsoffizieranwärter
Studium:	1978 - 1984 an der Ludwig Maximilians-Universität München
Prüfungen:	1980 Ärztliche Vorprüfung 1981 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1983 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1984 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Approbation	17. Oktober 1984
Eheschließung:	1984 mit Sabine Weber

